Aus den seminaristischen Uebungen für pathologische Physiologie
an der Universität Berlin.
(Leiter: Prof. Dr. Adolf Bickel.)

Beiträge zur Kenntnis des Einflusses der Aminosäuren des Nahrungseiweißes auf die Oxydationslage im Zwischenstoffwechsel und den Glykogengehalt der Leber

Inaugural-Dissertation

**zur Erlangung des Medizinischen Doktorgrades
an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin**

vorgelegt von

Heinz Jochmann
aus Berlin.

Tag der Promotion: 20. Oktober 1939.

VERLAG RUDOLPH PFAU, BERLIN NW. 7, LUISENSTR. 21

M 268

Gedruckt mit Genehmigung
der
Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. K r e u z
Referent: Prof. Dr. B i c k e l
Korreferent: Prof. Dr. L o h m a n n

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die neuen Untersuchungen Bickels und seiner Schüler haben gezeigt, daß die Oxydationslage im Zwischenstoffwechsel und auch die Größe des Leberglykogengehaltes in wesentlicher Weise abhängig ist von der Menge und der Art des Nahrungseiweißes. — Ueber die diesbezüglichen Untersuchungen, die im hiesigen Laboratorium zur Klärung der Frage nach den regulatorischen Beziehungen des Nahrungseiweißes und insbesondere auch der Nahrungseiweißqualität zum Leberglykogengehalt ausgeführt wurden, und durch die diese Beziehungen der Qualität des Nahrungseiweißes zum Leberglykogenbestand überhaupt entdeckt wurden, hat Bickel (4, 5) bereits zusammenfassend berichtet. — Es handelt sich bei der Gestaltung der Oxydationslage offenbar um eine gleichsam regulatorische Wirkung der aus dem Nahrungseiweiß bei der Magen-Darmverdauung entstehenden Abbauprodukte, und zwar hauptsächlich der Aminosäuren. Man kann geradezu eine spezifische Wirkung der Abbauprodukte des Nahrungseiweißes auf die Oxydationslage des Zwischenstoffwechsels annehmen, die einer Vitamin- oder Hormonwirkung ähnelt oder einem katalysatorischen Vorgang vergleichbar ist. Aber auch bei der Gestaltung des Leberglykogengehaltes muß man ebenfalls eine steuernde Wirkung dieser Substanzen annehmen, da bei der Anordnung der diesbezüglichen Versuche eine Bausteinbelieferung des Körpers durch das Nahrungseiweiß für Glykogen kaum eine Rolle spielen konnte; denn im Vergleich zum Gehalt der Nahrung an N-Substanz war ihr Gehalt an Kohlehydrat und Fett außerordentlich hoch. Der Körper verfügt gerade in den großen Kohlehydratmengen über die besten Zucker- und Glykogenlieferanten, denen gegenüber in der Norm die Glykogenbildung aus Eiweiß in der Nahrung bekanntlich bedeutungslos ist.

Daß diese hier entwickelte theoretische Vorstellung richtig ist, ergab sich daraus, daß bei der oralen oder parenteralen Zufuhr von bestimmten Aminosäuren oder Aminosäurengemischen, sei es als zusätzliche Gabe zu einer bestimmten Versuchsnahrung mit bestimmtem Nahrungseiweiß, sei es als Ersatz des Nahrungseiweißes, Wirkungen an der Gestaltung der Harnquotienten C : N und Vakat O : N beobachtet werden konnten.

So wurde z. B. im Bickelschen Laboratorium ein Versuch durchgeführt, in dem es sich darum handelte, die Wirkungen einer ge-

staffelten Zugabe von Tyrosin zu einer eiweißfreien Grundkost festzustellen. Es wurden zwei verschiedene Gruppen von je 10 Ratten genommen, deren erste Gruppe zu ihrer eiweißfreien Grundkost 0,75 g Tyrosin erhielt, während die zweite Gruppe 1,5 g Tyrosin erhielt. Das Ergebnis war: Beim Kohlenstoffquotienten war in beiden Versuchen eine mehr oder weniger ausgeprägte Tendenz zur Senkung, beim Oxydationsquotienten eine kräftige Steigerung, die bei der großen Tyrosingabe früher auftrat, als bei der kleinen, festzustellen. Analoge Experimente, mit deutlich sichtbaren Wirkungen auf die Harnquotienten, wurden mit Cystin, Arginin, Alanin und anderen durchgeführt. — Zusammenfassend läßt sich nach diesen Versuchen sagen: Wenn man bei eiweißfreier Ernährung einzelne Aminosäuren in genügender Menge der Diät zulegt, können in Abhängigkeit von der Art der Aminosäuren Aenderungen an den Harnquotienten auftreten. Versuche mit einer zusätzlichen Aminosäuregabe zu einer eiweißhaltigen Grundkost wurden außer von Bickel und seinen Schülern auch von den französischen Forschern (11) Laclau, Marenzi und Braier durchgeführt. Auch diese Versuche beweisen die Wirkung einer zusätzlich zum Nahrungseiweiß gegebenen Aminosäure auf den Harnquotienten. — Daß den Aminosäuren auch ein regulatorischer Einfluß auf den Glykogengehalt der Leber zusteht, ging daraus hervor, daß Zugabe einer aglukoplastischen (Definition nach Neubauer (2)) Aminosäure, nämlich des Tyrosins zur eiweißfreien Nahrung den Leberglykogengehalt senkte. (Bickel und Haug (3)). — Bickel und Haug fütterten vier Gruppen von je 10 Ratten mit einer Grundnahrung von Lebertran, Rohrzucker, Kartoffelstärke, Salzgemisch, Apfelsinensaft, Wasser. Zwei Gruppen der Ratten erhielten zusätzlich zu dieser Grundnahrung 0,2 g l-Tyrosin für jedes Tier täglich. In der Gesamttrockensubstanz betrug der Tyrosingehalt etwa 1,5% gegenüber einem Fettgehalt von 7,5% und einem Kohlehydratgehalt von 91%. Schon im Hinblick auf dieses gegenseitige Verhältnis der Hauptnährstoffe hätte das Tyrosin, auch wenn es nicht aglukoplastisch wäre, als Bausteinlieferant für Glykogen keine Rolle spielen können. Hätte sich das Tyrosin entgegen dieser Annahme doch als Bausteinlieferant für das Glykogen betätigt, so hätte der Leberglykogengehalt bei den Tyrosintieren größer sein müssen, als bei den Kontrolltieren. Das Umgekehrte war der Fall. Bei den tyrosinfrei ernährten Tieren war der Leberglykogengehalt nach vierzehntägiger Fütterung um 74% höher, als bei den korrespondierenden Tieren mit der Tyrosinzulage zur Nahrung. Diese überraschend starke Verminderung des Leberglykogengehaltes, die die mit Tyrosin ernährten Ratten erkennen ließen, muß daher wohl als Folge einer Steuerung des Leberglykogengehaltes durch das Tyrosin in bestimmter Richtung angesehen werden.

Es hat sich nun herausgestellt, daß vielfach diejenigen Eiweiße bzw. eiweißhaltigen Nahrungsmittel, die einen niedrigen Glykogengehalt der Leber bewirken, gleichzeitig auch eine niedrige Harnquotientenlage nach sich ziehen. — Ganz davon abgesehen sei hier

darauf hingewiesen, daß, unbeschadet aller dieser Beobachtungen über den regulatorischen Einfluß der Menge und Art des Nahrungseiweißes, wie des Einflusses von Aminosäuren auf den Leberglykogengehalt, das Nahrungseiweiß und auch gewisse Gruppen von Aminosäuren Baunsteinlieferanten für das Leberglykogen sein können. So gelang es Pflüger und Junkersdorf (1) zu beweisen, und zhar an umfangreichen Fütterungsversuchen, daß die Leber beim Hunde imstande ist, aus Eiweiß Glykogen herzustellen, wenn ihr dazu keine anderen Nahrungsmittel zur Verfügung stehen. Weiter unterscheidet Neubauer (2) glukoplastische Aminosäuren (Glykokoll, Alanin, Serin, Cystin, Glutaminsäure u. a.) von aglukoplastischen Aminosäuren, zu denen er Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Tryptophan, Lysin, Tyrosin u. a. rechnet.

Meine Aufgabe war es nun, einige ergänzende Versuche, sozusagen Stichproben zu einzelnen Fragen aus diesem ganzen einleitend skizzierten Problemenkreis anzustellen. Ich möchte hinzufügen, daß ich die Versuche und Analysen selbst ausgeführt habe, teilweise parallel mit der Laborantin, nachdem ich mich zuvor an einem anderen Versuch in dem Bickelschen Laboratorium in die Methodik der Analysen hatte einarbeiten können.

I.

Bei den bereits vorliegenden Untersuchungen über die Wirkung von Eiweißabbauprodukten auf die Oxydationslage des Zwischenstoffwechsels und auf den Leberglykogengehalt bediente man sich mehrfach der Säurehydrolysate eines bestimmten Eiweißes oder einer bestimmten Eiweißmischung. Ein solches Säurehydrolysat enthält neben den Aminosäuren bekanntlich auch eine große Menge von Huminstoffen und hat eine mehr oder weniger tiefbraune Färbung. Man mußte sich nun die Frage vorlegen, ob die Träger der beim Experimentieren mit einem solchen Hydrolysat beobachteten Stoffwechselwirkung lediglich die Aminosäuren wären, oder ob daran auch noch die anderen in dem Hydrolysat befindlichen Substanzen, insbesondere die Huminstoffe, beteiligt wären. Besonders nahe lag auch der Gedanke, daß unter den Begleitstoffen der Aminosäuren in einem solchen braunen Hydrolysat schwer verbrennbare C- oder H-reiche Substanzen sein könnten, die bei der oralen Gabe, nach ihrer Resorption den Körper unzersetzt passierten, im Harn erschienen und an der Gestaltung der Harnquotienten Anteil nähmen. Wie weit ein solcher Einwand Berechtigung hat, ließ sich durch folgenden Versuch entscheiden:

Man stellte sich eine größere Menge eines Gemisches eiweißhaltiger Nahrungsmittel her. — Bei meinem Versuch handelte es sich um eine Mischung, die hauptsächlich aus Weizenkleber neben Süßlupinenmehl und Bierhefe bestand, der eine kleine Menge Kasein zugeführt war. Das Ausgangsmaterial war eine ganz willkürliche

Mischung dieser eiweißhaltigen Nahrungsmittel. Man hydrolysierte nun diese Mischung in der üblichen Weise mit Schwefelsäure unter nachträglicher Ausfällung der überschüssigen Schwefelsäure, die zum Hydrolysieren verwandt war.

Der Begriff „Hydrolyse" besagt, daß die Proteine bei genügend energischer Einwirkung von Säuren oder Alkalien unter Wasseraufnahme in die Aminosäuren zerfallen.

Vorgang der Hydrolyse: 100 g Eiweißgemisch wurden mit 600 ccm 25 Vol.%iger Schwefelsäure 27 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Das Verschwinden der Biuretreaktion zeigte die Vollständigkeit der Hydrolyse an. Durch Eintragen von ca. 600 g Baryt in die schwarzbraune heiße Lösung wurde die Schwefelsäure in zwei Arbeitsgängen entfernt. Das Hydrolysat stellte eine leicht dickflüssige, tiefbraune Flüssigkeit dar, die bei Verdünnung mit Wasser klar in Lösung ging. Die Analyse des Hydrolysates ergab Folgendes:

Trockensubstanz	58%	Chlorgehalt	0,31%
Mineralstoffgehalt	6,05%	Natriumsulfat	1,31%
Organ. Substanz	52%	Gesamtstickstoff	7,31%
Wasser	42%	spez. Gewicht	1,2568

Ein Teil dieses flüssigen Hyrolysates wurde nun weiter verarbeitet, um die Aminosäuren in kristallinisch reiner Form zu erhalten. Der Vorgang war im Wesentlichen folgender: Nach Entfernung der Schwefelsäure aus der schwarzbraunen Lösung wurde das Filtrat mit Tierkohle geklärt, und die saure, fast farblose Lösung, welche keine Schwefelsäure mehr enthielt (Kongorot) durch Eindampfen im Vakuum zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wurde dann weiter gereinigt und schließlich im Trockenschrank bei 80 Grad C vorsichtig getrocknet. Der farblose Rückstand enthält dann alle durch Hydrolyse gewonnenen Aminosäuren in kristallinischer und trockener Form. Das erhaltene kristallinische Aminosäurengemisch enthielt:

1,81% Wasser, 11,5% Gesamtstickstoff, 1,26% Chlornatrium.

Es wurden nun zwanzig Ratten mit einer eiweißfreien Grundnahrung ernährt, die aus Lebertran, Zucker, Kartoffelstärke, Salzgemisch, Zitronensaft und Wasser bestand. Die Zubereitung des Futtergemisches geschah in folgender Weise: Aus den Nahrungsbestandteilen, mit Ausnahme der Vitaminträger Lebertran und Zitronensaft, wurde ein Brei gekocht. Die Vitaminträger wurden aber erst nach Beendigung des Kochens dem Nahrungsbrei hinzugegeben, desgl. die evtl. Aminosäuren. Die Tiere bekamen ihre Futterrationen täglich zur gleichen Stunde. Die Nahrung war so bemessen, daß sie jeweils innerhalb von 24 Stunden quantitativ verzehrt wurde. — Die zwanzig Ratten wurden in drei Gruppen geteilt, und zwar in eine Gruppe von sechs Tieren und in zwei Gruppen von je sieben Tieren. Jede Gruppe saß in einem gemeinsamen Stoffwechselkäfig, der es

gestattete, den Harn getrennt vom Kot aufzufangen. Im Sammelharn jeder Gruppe wurden dann an einer Reihe von Tagen die Harnquotienten C : N und Vakat O : N bestimmt. Vakat O umfaßt nach Helmut Müller (12) diejenige Sauerstoffmenge, die dem Harn zur vollständigen Oxydation seiner dysoxydablen Substanzen zugeführt werden muß. — Der Stickstoff wurde nach der bekannten Kjeldahlschen Halbmikromethode, der elementare Kohlenstoff nach der Mikromethode Nicloux-Osuka (6) und der Vakatsauerstoff nach der Mikromethode von Müller-Kanitz (7) bestimmt.

Die erste Gruppe von sechs Tieren bekam lediglich die eiweißfreie Nahrung. Die zweite Gruppe von sieben Tieren bekam diese Grundnahrung mt zusätzlicher Gabe des braunen Hydrolysates, und zwar in einer Menge, die pro Tier und Tag 0,13 g N enthielt. Die dritte Gruppe von sieben Tieren bekam als Zugabe zur eiweißfreien Grundkost pro Tier und Tag eine Menge der kristallinischen Aminosäuren, die 0,13 g N enthielt. Nachdem die Tiere in der genannten Weise 10 Tage ernährt worden waren, und zwar unter dauernder Kontrolle des Körpergewichtes und der Eiweiß- und Zuckerfreiheit des Harnes, wurden sie ca. 22 Stunden nach der letzten Futterbelieferung ihrer Käfige durch Genickschlag getötet, und die Lebern auf Glykogen nach der Methode von Pflüger-Bösl (8) analysiert. Die Tötung aller Tiere erfolgte im Verlauf von ¾ Stunden. — Es wurde immer eine Gruppe nach der anderen getötet; die Lebern wurden blitzschnell freipräpariert, von anhaftendem Gewebe befreit, grob zerstückelt und in einen schon vorher tarierten Meßkolben mit heißer Kalilauge geworfen und darin gewogen. Dieses Gemisch von Leber und Kalilauge, in dem Meßkolben waren 20 ccm 60%iger Kalilauge enthalten, kochte 3 Stunden lang am Rückflußkühler im Wasserbad und wurde alle 30 Minuten umgeschüttelt. Die Ausfällung des freigewordenen kolloiden Glykogens durch Alkohol geschah ohne Gefäßwechsel in dem schon zum Kochen verwendeten Hartglaskolben. Ein Substanzverlust wurde dadurch vermieden. Das mit absolutem Alkohol versetzte Gemisch blieb dann bis zum nächsten Morgen stehen. Der Glykogenniederschlag wurde nun mit Hilfe der Saugpumpe auf einem kleinen Glasfilter gesammelt. Die gesammelte Menge Glykogen und auch das Glasgefäß, in welchem die Fällung des Glykogens erfolgte, wurde gut mit 60 bis 100%igem Alkohol und mit Aether gewaschen und dann im Luftstrom getrocknet. Der das Glykogen enthaltende Rückstand wurde in 90 ccm heißem Wasser gelöst, und mit 10%iger Salzsäure bis zur sauren Reaktion versetzt. Nachdem noch ein Ueberschuß von 4,8 ccm konzentrierter Salzsäure hinzugegeben war, kochte dieses Gemisch 3 weitere Stunden am Rückflußkühler und wurde dann durch Zusatz von Kalilauge bis zur schwachsauren Reaktion abgestumpft, in einem 100 ccm fassendem Meßkolben filtriert und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Die Zuckerbestimmung wurde dann dreimal in 0,005 ccm dieser Lösung nach der von Hagedorn-Jensen angegebenen Mikromethode ausgeführt.

Versuchsprotokoll.

Futtertabelle zu Versuch I.

Käfig I.	Eiweißfreie Kost	Für 6 Tiere
		Kalorien:
Lebertran	12,3 ccm	ca. 110,7
Zucker	42,0 g	ca. 172,2
Kartoffelstärke	30,0 g	ca. 100,5
Salzgemisch	1,2 g	ca. 383,4
Zitronensaft	6,0 ccm	
Wasser	360,0 ccm	

Kalorienzufuhr pro Tier und Tag: ca. 64 Kalorien.
N-Zufuhr pro Tier und Tag: ca. 0,004 g.

Käfig II.	Reines Hydrolysat	Für 7 Tiere
		Kalorien:
Lebertran	10,5 ccm	ca. 94,5
Zucker	49,0 g	ca. 200,9
Kartoffelstärke	35,0 g	ca. 117,1
Salzgemisch	1,4 g	
Zitronensaft	7,0 ccm	
Wasser	420,0 ccm	
Hydrolysat	11,6 ccm	ca. 36,6
		ca. 449,1

Kalorienzufuhr pro Tier und Tag: ca. 64,1 Kalorien.
N-Zufuhr pro Tier und Tag: ca. 0,134 g.

12 ccm Hydrolysat = 12,85 g
1 ccm Hydrolysat = 1,07 g

100 g Hydrolysat = 7,31 g N
1 g Hydrolysat = 0,0731 g N

1 ccm Hydrolysat = 0,0782 g N

pro Ratte und Tag = 0,13 g N
pro Ratte und Tag = 1,66 cmm Hydrolysat = 0,13 g N
7 Ratten und Tag = 11,62 ccm Hydroglysat = 0,91 g N

Käfig III.	Reines Aminosäurengemisch	Für 7 Tiere
		Kalorien:
Lebertran	10,5 ccm	ca. 94,5
Zucker	49,0 g	ca. 200,9
Kartoffelstärke	35,0 g	ca. 117,1
Salzgemisch	1,4 g	
Zitronensaft	7,0 ccm	
Wasser	420,0 ccm	
Aminosäuren	7,91 g	ca. 36,6
		ca. 449,1

Kalorienzufuhr pro Tier und Tag: ca. 64 Kalorien.

N-Zufuhr pro Tier und Tag: ca. 0,134 g.

100 g reines Aminosäurengemisch = 11,5 g N

1 g reines Aminosäurengemisch = 0,115 g N

pro Ratte und Tag = 0,13 g N

7 Ratten und Tag = 0,91 g N = 7,91 g Präparat.

Analysentabelle Versuch I.

Versuchstag Nr.	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-C mg	Harn-Vacat-O mg	Harn-N mg	C/N	O/N	O/C
Käfig I		Eiweißfreie Kost						6 Ratten
1	1010	60	196	356	92	2,12	3,85	1,82
2	1010	75	264	496	125	2,11	3,97	1,88
3	1010	65	254	490	125	2,04	3,93	1,93
4	1010	30	165	324	88	1,88	3,67	1,96
5	998	50	180	331	86	2,09	3,84	1,84
Periodendurchschnittswerte:			212	399	103	2,06	3,87	1,88
Käfig II		Hydrolysat						7 Ratten
1	1340	125	579	902	555	1,04	1,63	1,56
2	1370	115	465	866	483	0,96	1,79	1,86
3	1360	105	459	826	482	0,95	1,71	1,80
4	1360	100	439	792	445	0,98	1,78	1,80
5	1350	100	485	787	456	1,06	1,72	1,62
Periodendurchschnittswerte:			485	835	484	1,00	1,73	1,72
Käfig III		Reine Aminosäuren des Hydrolysates						7 Ratten
1	1270	120	554	794	496	1,11	1,60	1,43
2	1300	95	461	747	434	1,06	1,72	1,62
3	1300	80	376	704	370	0,99	1,86	1,87
4	1270	75	348	664	362	1,04	1,83	1,75
5	1250	100	404	753	420	0,96	1,79	1,86
Periodendurchschnittswerte:			429	732	418	1,03	1,75	1,71

Glykogenanalysen Versuch I.

1 × 6 und 2 × 7 Ratten wurden 10 Tage lang mit a) Grundnahrung, b) Grundnahrung und Hydrolysat, c) Grundnahrung und reines Aminosäuregemisch gefüttert und dann getötet. Zusammensetzung des Futtergemisches siehe entsprechende Tabelle.

Gewichte:	I. Gruppe (6 Tiere)	II. Gruppe (7 Tiere)	III. Gruppe (7 Tiere)
1. Tag	1010 g	1340 g	1270 g
3. Tag	1010 g	1370 g	1300 g
5. Tag	1010 g	1360 g	1300 g
7. Tag	1010 g	1360 g	1270 g
9. Tag	998 g	1350 g	1250 g

Lebergewichte.

I. Gruppe 6 Ratten	45,80 g Leber
II. Gruppe 7 Ratten	62,40 g Leber
III. Gruppe 7 Ratten	60,50 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt.

I. Gruppe eiweißfreie Kost	= 4,629 g
II. Gruppe Hydrolysat und Grundnahrung	= 4,134 g
III. Gruppe reine Aminosäuren und Grundnahrung	= 4,066 g

Das Ergebnis dieses ganzen Versuches ist lt. Versuchsprotokollen also folgendes: Die Harnquotienten liegen bei den eiweißfrei ernährten Tieren durchweg bedeutend höher, als bei den Tieren mit zusätzlicher Gabe des flüssigen Hydolysates oder des kristallinischen Aminosäurengemisches. Die Werte, die die Harnquotienten in den beiden letzten Fällen aufweisen, sind unter sich praktisch gleich und sie liegen in der Größenordnung derjenigen Werte, die nach der Bickelschen Tabelle (4) (Seite 41) dem Kasein entspricht, wenn es in der definierten gemischten Versuchsnahrung alleiniger Träger des Nahrungseiweißes ist. Das ist daraus zu erklären, daß in meinem Versuch zur Hydrolyse ja nur Eiweiße und eiweißhaltige Nahrungsmittel verwandt wurden, die nach eben dieser Tabelle unter den genannten Versuchsbedingungen eine Harnquotientenlage unterhalten, die z. T. ganz, z. T. fast derjenigen entspricht, die dem Kasein angehört. Nach dieser Tabelle verursacht nur die Hefe und die Süßlupine als Nahrungseiweißträger gegenüber den Kaseinwerten eine zweifelhafte Erhöhung des Vakat O : N-Wertes. Der Versuch zeigt also, daß die Werte für die Harnquotienten unter den genannten Versuchsbedingungen ausschließlich durch die Aminosäuren und nicht durch die Begleitstoffe beeinflußt werden, die sich außer den Stickstoffverbindungen noch in einem ungereinigten Eiweißhydrolysat befinden.

Die Analyse des Leberglykogens hatte folgendes Ergebnis: Die eiweißfrei ernährten Tiere hatten 4,62% Glykogentraubenzucker in der frischen Leber. Die Tiere mit der zusätzlichen Gabe des braunen Hydrolysates hatten 4,13%, und diejenigen, die das chemisch reine Aminosäurengemisch bekamen, 4,07% Glykogentraubenzucker in der frischen Leber. Praktisch ist also der Glykogengehalt der Lebern der Tiere, die das flüssige Hydrolysat erhalten hatten, gleich dem

der Tiere, die die kristallinischen Aminosäuren erhalten hatten, während die eiweißfrei ernährten Tiere etwa 12,68% mehr Glykogen in der Leber aufweisen. Die Begleitstoffe der Aminosäuren in dem braunen Hydrolysat waren also praktisch völlig einflußlos auf den Leberglykogengehalt. Dagegen war der Leberglykogengehalt bei den Tieren, die überhaupt Aminosäuren bekommen hatten, niedriger, als bei den aminosäurenfrei ernährten Tieren; aber die Differenz ist doch recht gering. Sie ist auffallend klein, wenn man denkt, daß bei den Versuchen von Bickel und Haug (3) schon die zusätzliche Gabe einer an sich unbedeutenden Tyrosinmenge zur eiweißfreien Diät den Leberglykogengehalt um 74% nach 14tägiger Fütterung senkte. Die Gegenüberstellung dieser Befunde zeigt uns, daß die regulatorische Wirkung einer einzelnen Aminosäure, wenn sie in der eiweißfreien Nahrung auftritt, eine durchaus andere sein kann, als die regulatorische Wirkung eines Aminosäurengemisches, in dem die genannte Aminosäure ebenfalls vertreten ist. — Daß bei meinen vorliegenden Versuchen eine an sich mögliche Bausteinbelieferung des Körpers (Pflüger und Junkersdorff (1)) durch die zugelegten Aminokörper nicht in Frage kommt, ergibt sich aus folgenden Gründen: 1. war der Gehalt der Nahrung an hervorragenden Glykogenlieferanten, nämlich an Stärke, Zucker und Fett, so groß, daß die Aminosäuren demgegenüber völlig zurücktraten. 2. war gerade bei den Diätgruppen mit Zulage von Aminosäuren ein niedrigerer Glykogengehalt der Leber festzustellen, als bei den Diätgruppen ohne Zulage der Aminosäuren.

Praktisch zeigt das Ergebnis meines Versuches, daß man unbedenklich bei einschlägigen Stoffwechselversuchen mit dem braunen Säurehyrrolysat eines Eiweißes ebenso einwandfrei die Wirkung der darin enthaltenen Aminosäuren in den genannten Richtungen studieren kann, wie bei der Verwendung der rein dargestellten Aminosäuren des Hydrolysates.

II.

Ueber die Abhängigkeit des Leberglykogengehaltes von der Menge der Aminosäuren in der gemischten Nahrung.

In einer Dissertation von Pirl (9) aus dem Bickelschen Laboratorium war gezeigt worden, daß der Glykogengehalt der Leber durch die Menge des Nahrungseiweißes in der gemischten Nahrung bestimmt wird. — Um die Wirkung verschiedener Quantitäten ein und desselben Eiweißes auf den Leberglykogengehalt festzustellen und gleichzeitig auf die Oxydationslage im Zwischenstoffwechsel,

benutzte Pirl vier Gruppen von je zehn Ratten. Jede dieser Gruppen erhielt dieselbe Grundnahrung aus Lebertran, Zucker, Kartoffelstärke, Salzgemisch, Zitronensaft und Wasser bestehend; aber als Zulage erhielten je zwei Gruppen pro Ratte 1,8 g Kasein täglich, während in den beiden anderen Gruppen jede Ratte nur 0,3 g Kasein täglich erhielt. Es stellte sich nun erstens heraus, daß die mit 0,3 g Kasein pro Ratte ernährten Tiere eine wesentlich höhere Harnquotientenlage aufwiesen, als die mit 1,8 g pro Ratte ernährten. Diese Untersruchung bestätigt also, daß der Nahrungseiweißgehalt als solcher einen richtunggebenden Einfluß auf die Lage der Harnquotienten hat. Zweitens zeigten die eiweißarm ernährten Tiere einen wesentlich höheren Leberglykogengehalt, als die eiweißreich ernährten. Also zeigt auch diese Untersuchung die enorme Bedeutung des Nahrungseiweißgehaltes auf den Leberglykogengehalt.

Meine Aufgabe war es nun, an einer Stichprobe festzustellen, ob dasselbe auch gilt, wenn anstelle des Nahrungseiweißes ein Gemisch von chemisch reinen Aminosäuren der an sich eiweißfreien Nahrung in unterschiedlichen Mengen zugesetzt wurde. Ich benutzte zu diesen Versuchen dasselbe Präparat reiner Aminosäuren, das ich bei meinem ersten Versuch verwandt hatte.

Futtertabelle zu Versuch II.

Käfig I,

(Zulage von 10,87 g reiner Aminosäuren zur Grundkost für 10 Tiere.)

		Kalorien
Kartoffelstärke	50 g = 0,04 g N	ca. 167,5
Zucker	50 g	ca. 200,0
Lebertran	10 ccm	ca. 90,0
Apfelsinensaft	10 ccm	
Salzgemisch	1 g	
Wasser	600 ccm	
reine Aminosäuren	10,87 g = 1,250 g N	ca. 43,5
		ca. 501,0

Käfig II,

(Zulage von 21,74 g reiner Aminosäuren zur Grundkost für 10 Tiere)

Kartoffelstärke	50 g = 0,04 g N	ca. 167,5
Zucker	50 g	ca. 200,0
Lebertran	5,5 ccm	ca. 90,0
Apfelsinensaft	10 ccm	
Salzgemisch	1 g	
Wasser	600 ccm	
reine Aminosäuren	21,74 g = 2,50 g N	ca. 87,0
		ca. 544,5

Analysentabelle zu Versuch II (Stichproben).

Versuchstag Nr.	Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-C mg	Harn-Vacat-O mg	Harn-N mg	C/N	O/N	O/C
Käfig I.	Reine Aminosäuren, einfache Menge.						10 Ratten	
1	1370	205	606	1088	603	1,01	1,80	1,79
2	1300	100	362	629	340	1,06	1,85	1,74
Periodendurchschnittswerte:			484	859	472	1,03	1,82	1,77
1	1290	145	784	1108	767	1,02	1,44	1,41
2	1050 (8 Ratten)	90	596	828	651	0,91	1,27	1,39
Periodendurchschnittswerte:			690	968	709	0,97	1,37	1,40

Glykogenanalysen zu Versuch II.

2 × 5 Tiere wurden 9 Tage lang mit 10,87 g reinen Aminosäuren und Grundnahrung gefüttert und dann getötet. Zusammensetzung des Futtergemisches siehe Futtertabelle.

Gewichte.

	1. Gruppe 5 Tiere * Kleine Aminosäurenmenge	1a. Gruppe 5 Tiere Kleine Aminosäurenmenge
1. Tag	685 g	685 g
3. Tag	680 g	690 g
5. Tag	685 g	685 g
7. Tag	650 g	650 g
9. Tag	625 g	625 g

* Am Tötungstag 1 Ratte tot (die bei der Glykogenanalyse ausscheidet).

Lebergewichte.

Gruppe 1 4 Ratten	28,30 g Leber
Gruppe 1a 5 Ratten	29,00 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt.

Gruppe 1 4 Ratten	4,169%
Gruppe 1a 5 Ratten	4,000%

2 × 5 Ratten wurden 9 Tage lang mit 21,74 g (also doppelter Menge) reinen Aminosäuren und Grundnahrung gefüttert und dann getötet.

Gewichte.

	2. Gruppe 5 Tiere * Große Aminosäurenmenge	2a. Gruppe 5 Tiere * Große Aminosäurenmenge
1. Tag	675 g	675 g
3. Tag	670 g	680 g
5. Tag	675 g	675 g
7. Tag	645 g	645 g
9. Tag	645 g	545 g
10.Tag	505 g	545 g

* Am Tötungstag 1 Ratte tot (die bei der Glykogenanalyse ausscheidet).

Lebergewichte.

Gruppe 2 4 Ratten ..... 19,90 g Leber
Gruppe 2a 4 Ratten ..... 23,50 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt.

Gruppe 2 4 Ratten 3,116%
Gruppe 2a 4 Ratten 2,897%

Ergebnis: Der Versuch ergibt also folgendes: Bei einer Verdoppelung des Aminosäuren-N-Gehaltes der Nahrung geht der Glykogentraubenzuckergehalt der Leber von 4,1% auf 3% zurück. Mit dem niedrigen Aminosäurengehalt der Nahrung war also ein ca. 37% höherer Leberglykogengehalt verknüpft. Im Prinzip ist des Resultat meines Versuches also dasselbe, wie das des Pirlschen Versuches mit dem nativen Eiweiß. Die von Pirl am nativen Eiweiß beobachtete Wirkung ist also offensichtlich an die Menge der zur Resorption gelangenden Aminosäuren geknüpft. — Bei diesem Versuch hatte ich auch in Stichproben die Harnquotienzahlen bestimmt. Es zeigte sich nun, daß bei der doppelten Aminosäurengabe die Harnquotienten, vorzüglich Vakat $\frac{O}{IV}$ niedriger liegen, als bei der einfachen Gabe. Auch dieses Ergebnis stimmt prinzipiell mit entsprechenden Beobachtungen bei der Gabe von nativem Eiweiß überein.

III.

Ueber die Wirkung einer zusätzlichen Gabe von Kasein oder den Aminosäuren des Kaseins in N-äquimolekularer Menge zur eiweißfreien Nahrung auf den Glykogengehalt der Leber.

Wenn die regulatorische Wirkung des Nativeiweißes auf den Leberglykogengehalt letztlich eine Wirkung der resorbierten Aminosäuren ist, dann müßte es für das Versuchsergebnis belanglos sein, ob man in N-äquimolekularer Menge ein bestimmtes Eiweiß oder die aus ihm durch Säurehydrolyse gewonnenen chemisch reinen Aminosäuren verfütterte, wofern dieses Hydrolysat in seiner Amino-

säurenzusammensetzung wenigstens einigermaßen derjenigen des nativen Eiweißes ähnelte. Man hätte nun allerdings nach dem Ergebnis meines ersten Versuches auch mit dem braunen Hydrolysat arbeiten können, dennoch wurde aus Gründen einer direkten Beweisführung bei dem nachstehenden Versuch das schneeweiße, durch Reinigung des braunen Hydrolysates gewonnene Aminosäurengemisch des Kaseins benutzt. — Es wurden drei Gruppen von fünf Ratten gebildet, deren erste Gruppe natives Kasein als Zukost zu einer Grundnahrung erhielt, während die anderen zwei Gruppen das aus Kaseinhydrolysat gewonnene chemisch rein dargestellte Aminosäurengemisch als Zukost bekamen. Die Tiere der Gruppe 1 empfingen zu der eiweißfreien Grundkost natives Eiweiß in einer Tagesmenge von 0,13 g N pro Tier. Die Tiere der Gruppen 2 a und 2 b bekamen eine N-äquimolekulare Menge des aus dem Kasein derselben Herstellungsgruppe gewonnenen chemisch reinen Aminosäurengemisches als Zukost zu der eiweißfreien Grundkost.

Versuch III.

Futtertabelle zu Versuch III.

Käfig I.	Kasein		Für 5 Tiere
			Kalorien
Kartoffelstärke	25 g = 0,02 g N		ca. 83,8
Zucker	25 g		ca. 100,0
Lebertran	5 ccm		ca. 45,0
Apfelsinensaft	5 ccm		
Salzgemisch	0,5 g		
Wasser	300 ccm		
Kasein nativ	5 g = 0,625 g N		ca. 20,0
			ca. 249,0

Käfig IIa, b.	Reines Aminosäurengemisch		Für 5 Tiere
			Kalorien
Kartoffelstärke	25 g = 0,02 g N		ca. 83,8
Zucker	25 g		ca. 100,0
Lebertran	5 ccm		ca. 45,0
Apfelsinensaft	5 ccm		
Salzgemisch	0,5 g		
Wasser	300 ccm		
reine Aminosäuren	5,63 g = 0,625 g N		ca. 22,5
			ca. 251,5

Glykogenanalysen zu Versuch III.

Käfig I = 5 Ratten wurden 10 Tage lang mit Kasein und Grundnahrung gefüttert und dann getötet.

Gewichte.

I. Gruppe = 5 Tiere.

1. Tag	690 g	7. Tag	690 g
3. Tag	690 g	9. Tag	690 g
5. Tag	690 g	10. Tag	690 g

Lebergewicht.

I. Gruppe = 5 Ratten ..... 33,50 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt

I. Gruppe = 5 Ratten ..... 4,179 g

Käfig II a, b = 2×5 Ratten wurden 9 und 10 Tage lang mit reinem Aminosäurengemisch und Grundnahrung gefüttert und dann getötet.

Gewichte.

	Gruppe 2a (5 Ratten)	Gruppe 2b (5 Ratten)
1. Tag	1250 g	1250 g
3. Tag	1240 g	1250 g
5. Tag	1240 g	1250 g
7. Tag	1210 g	1220 g
9. Tag	1195 g	1195 g

Lebergewichte.

IIa Gruppe = 5 Ratten	10 Tage	50,6 g Leber
IIb Gruppe = 5 Ratten	9 Tage	52,3 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt:

IIa Gruppe = 5 Ratten	4,252%
IIb Gruppe = 5 Ratten	4,206%

Das Ergebnis dieses Versuchs zeigt also, daß die Lebern der Tiere beider Gruppen, also sowohl derjenigen, die als Zukost natives Eiweiß, als auch derjenigen, die dessen Aminosäurengemisch als Zukost erhalten hatten, praktisch denselben prozentualen Glykogentraubenzuckergehalt aufweisen. Auch aus diesem Versuch geht hervor, daß die Träger der regulatorischen Wirkung des Eiweißes auf den Leberglykogentraubenzuckergehalt die Aminosäuren und keine irgendwelchen Begleitstoffe des Eiweißes sind.

IV.

Im Anschluß an diese Versuche habe ich noch einen Versuch durchgeführt, bei dem ich die Wirkung einer eiweißfreien Diät mit derjenigen der gleichen Diät, aber zusätzlicher Gabe des aus einer Eiweißmischung gewonnenen reinen Aminosäurengemisches, das ich auch in dem ersten Versuch verwandt hatte, verglichen habe; und zwar in ihrer Wirkung auf den Leberglykogengehalt. Es wurden zwei Gruppen von je 10 Ratten gebildet, deren eine mit einem Grundfutter, das eiweißfrei war, ernährt wurde, während die andere Gruppe zu der eiweißfreien Grunddiät eine zusätzliche Gabe des reinen Aminosäurengemisches erhielt.

Futtertabelle zu Versuch IV.

Grundfutter für beide Gruppen je 10 Ratten.

		Kalorien:
Kartoffelstärke	60 g	ca. 201,0
Zucker	60 g	ca. 240,0
Lebertran	20 ccm	ca. 180,0
Zitronensaft	10 ccm	
Salzgemisch	2 g	
Wasser	600 ccm	
		ca. 621,0

Kafig I: Grundfutter ohne Zulage.
Kafig II: Grundfutter und 11,30 g reines Aminosäurengemisch = 0,65 g N.

Analysentabelle zu Versuch IV (Stichproben).

Körpergewicht g	Harnmenge ccm	Harn-C mg	Harn-Vacat-O mg	Harn-N mg	C/N	O/N	O/C
Käfig I Eiweißfreie Grundnahrung (10 Ratten).							
2580	180	457	847	212	2,16	4,00	1,85
Käfig II Reine Aminosäurenzukost (10 Ratten).							
2510	100	890	1353	804	1,11	1,68	1,52

Glykogenanalysen zu Versuch IV.

2 × 5 Ratten wurden 10 Tage lang mit eiweißfreier Kost gefüttert und dann getötet.

Gewichte. Gruppe Ia.

1. Tag	1325 g	7. Tag	1275 g
3. Tag	1305 g	9. Tag	1100 g
5. Tag	1305 g		

Lebergewicht.

5 Ratten ..... 54,0 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt.

5 Ratten eiweißfrei 4,614%

Leider ist bei der Gruppe I b der Glykogenanalysen das Glasgefäß, in dem die Masse war, zerbrochen. Da aber die Gewichte der Ratten und die Fütterung genau dieselbe war, wie bei der Gruppe I a, da außerdem das Ergebnis der Analyse des Glykogentraubenzuckergehaltes in den Lebern der eiweißfrei ernährten Tiere fast genau mit dem I. Versuch übereinstimmt, wurde die Analyse an den fünf Tieren der Gruppe I a als genügend angesehen.

2 × 5 Ratten wurden 10 und 9 Tage lang mit reinem Aminosäurengemisch und Grundkost gefüttert und dann getötet.

Gewichte.

	Gruppe IIa (5 Ratten)	Gruppe IIb (5 Ratten)
1. Tag	1270 g	1270 g
3. Tag	1265 g	1275 g
5. Tag	1250 g	1260 g
7. Tag	1220 g	1230 g
9. Tag	1050 g	1200 g
	(1 Ratte gestorben)	

Lebergewichte.

IIa Gruppe 4 Ratten	10 Tage	52,1 g Leber
IIb Gruppe 5 Ratten	9 Tage	53,4 g Leber

Glykogentraubenzuckergehalt.

IIa Gruppe	3,886 g
IIb Gruppe	4,007 g

Ergebnis: Auch in diesem Versuch zeigt sich die senkende Wirkung auf den Leberglykogengehalt, die dem Zusatz der Aminosäuren zu der eiweißfreien Nahrung zukommt. Die eiweißfrei ernährten Tiere haben im Vergleich zu den mit zusätzlichen Aminosäuregaben ernährten etwa 16,7% mehr Glykogen in ihrer Leber gespeichert. Also geht auch aus diesem Versuch ganz deutlich die Beeinflussung des Leberglykogenstoffwechsels durch die Aminosäuren hervor.

Zusammenfassender Schlußgedanke.

Die Träger aller hier beobachteten Eiweißwirkungen, also der Beeinflussung des intermediären Zwischenstoffwechsel, erkennbar an den Veränderungen der Harnquotienten C : N und Vakat O : N, aber auch der Beeinflussung des Leberglykogengehaltes, sind vorzüglich die Aminosäuren. Daher dürfen auch die verschiedenen diesbezüglichen Wirkungen, die wir bei der Gabe verschiedener eiweißhaltiger Nahrungsmittel beobachten, in erster Linie immer als die Wirkungen des Eiweißes in diesen Nahrungsmitteln bzw. ihrer zur Resorption gelangenden Aminosäuren angesehen werden.

Literatur.

1. E. Pflüger u. P. Junkersdorf: Pflügers Archiv 1910, Bd. 131, Seite 201.
2. Neubauer: Handbuch der norm. u. path. Physiologie, Bd. 6, S. 827, Berlin, Julius Springer, 1928.
3. A. Bickel u. A. Haug: Dtsch. med. Wchschr. Nr. 2, S. 53, 1939.
4. A. Bickel: Ueber die Beziehungen der Qualität des Nahrungseiweißes zum Ablauf des Betriebsstoffwechsels. Basel, B. Schwabe & Co., 1938.
5. A. Bickel: Die Ernährung der olympischen Kämpfer in Vergangenheit und Gegenwart, Berlin 1938.
6. Osuka: Biochem. Z. 246, S. 104, 1932.
7. Kanitz: Biochem. Z. 249, S. 234, 1932, 257, S. 361, 1933.
8. Bösl: Biochem. Z. 202, S. 299, 1928.
9. Pirl: Zeitschr. f. d. ges. exper. Medizin 814, I. Springer.
10. Stöhr: Biochem. Z., Bd. 299, S. 243, 1938.
11. Laclau, Marenzi & Braier: C. r. Soc. Biol. 1930, 104, S. 419.
12. Müller: Klin. Wochenschrift 1926, Nr. 48, Biochem. Z. 1927, 186, S. 451, 1927, 188, S. 56, 1929, 213, S. 116.

Lebenslauf.

Als Sohn des verstorbenen Prof. Dr. med. Georg Jochmann, dirigierenden Arztes der Infektionsabteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses, und seiner Ehefrau Wilhelmine geb. Hidde, wurde ich am 3. Januar 1914 in Berlin geboren. Nach Beendigung meiner Schulausbildung am Johanneum in Hamburg und am Mommsengymnasium in Berlin, wurde ich Ostern 1933 an der Friedrich-Wilhelms-Universität Berlin immatrikuliert. Nach fünf Semestern bestand ich hier die ärztliche Vorprüfung und nach elf Semestern im Dezember 1938 das ärztliche Staatsexamen. Ab Dezember 1938 bin ich als Medizinalpraktikant tätig mit dem Ziele, im Herbst 1939 die ärztliche Bestallung zu erhalten.

Die vorliegende Dissertation fertigte ich im Laufe des Frühjahrs und Sommers 1939 in den seminaristischen Uebungen für pathologische Physiologie an der Universität Berlin unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Adolf Bickel an.

Ich möchte an dieser Stelle Herrn Professor Bickel für die freundliche Unterstützung, die ich jederzeit bei ihm gefunden habe, und für die Ueberlassung der Versuchsthemen aufrichtigst danken.